BD BBL Enterotube II

APPLICATION

Le **BBL Enterotube II** est un système prêt à l'emploi d'identification des *Enterobacteriaceae* et de divers autres bâtonnets à Gram négatif et négatifs à l'oxydase.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Les *Enterobacteriaceae* sont des agents infectieux d'importance majeure. Ce groupe de bactéries utilise les hydrates de carbone principalement par fermentation et par oxydation. Ces bactéries sont positives à la catalase et presque toutes sont oxydase négatives. [Il a été proposé récemment d'inclure *Plesiomonas shigelloides* dans la famille des *Enterobacteriaceae* sur la base du séquençage ARNr 16 S, car *Plesiomonas shigelloides* contient l'antigène commun des entérobactéries.[1,2] Auparavant, ce microorganisme oxydase positif faisait partie de la famille des *Vibrionaceae.*] L'identification des *Enterobacteriaceae* se base sur des réactions biochimiques décrites par Ewing et Farmer. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations.[1-11]

Bien qu'un très grand nombre de genres et d'espèces ont été décrits au fil des années, les microorganismes isolés dans les échantillons cliniques appartiennent à une vingtaine d'espèces, connues depuis longtemps.[1]

Le système **BBL Enterotube II** est un tube en plastique compartimenté autonome contenant douze milieux différents, permettant d'évaluer 15 réactions biochimiques (glucose, production de gaz à partir du glucose, lysine décarboxylase, ornithine décarboxylase, acide sulfhydrique (H_2S), indole, adonitol, lactose, arabinose, sorbitol, Voges-Proskauer (VP), dulcitol, phénylalanine désaminase (PA), urée et citrate). Le fil à ensemencer interne permet d'ensemencer tous les compartiments en une seule opération, à partir d'une ou de plusieurs colonies d'un isolat. La combinaison de réactions obtenue permet, avec l'aide du Guide d'interprétation (livre des codes), d'identifier des *Enterobacteriaceae* importantes du point de vue clinique.

Le Guide d'interprétation (livre des codes) du système **BBL Enterotube II** est basé sur les données de pourcentage indiquées dans les publications de référence pour les tests biochimiques effectués à l'aide de ce système.[3-11] La Fiche de résultat et le Tableau des couleurs obtenues en fonction des réactions permettent de vérifier rapidement les réactions positives dans le **BBL Enterotube II**. L'utilisateur doit alors additionner les nombres positifs trouvés, puis rechercher le total obtenu dans le Guide d'interprétation afin d'identifier les microorganismes. Lorsque plusieurs microorganismes sont répertoriés, le Guide indique également les tests de confirmation à effectuer pour finaliser l'identification.

L'organigramme ci-après montre comment le test d'oxydase permet de différencier, parmi les membres de la famille *Enterobacteriaceae*, les bactéries à Gram négatif de type non fermentaires positives ou négatives à l'oxydase de celles du type fermentaires positives à l'oxydase, lorsque le système **BBL Enterotube II** ou **BBL Oxi/Ferm Tube II** est utilisé :

Culture pure sur milieu non sélectif

↓

Test d'oxydase

positif → Ensemencement **BBL Oxi/Ferm Tube II** → Glucose anaérobie

Positif	Négatif
Aeromonas spp., *Plesiomonas shigelloides, Vibrio* spp.	*Achromobacter* spp., *Alcaligenes* spp., *Bordetella bronchiseptica, Moraxella* spp., *Pasteurella* spp., etc.

négatif → Ensemencement **BBL Enterotube II** → Glucose

Positif	Négatif*
Enterobacteriaceae	*Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, etc.

* Ces espèces peuvent être identifiées avec le système **BBL Enterotube II**, mais le **BBL Oxi/Ferm Tube II** peut être nécessaire pour confirmation.

REACTIFS

BBL Enterotube II

Substrats, autres réactifs et coloration des milieux non ensemencés :

- Milieu 1 (Glucose) : Glucose (20,0 g/L) contenu dans un milieu de base adéquat, avec le rouge de crésol comme indicateur de pH. Le milieu est recouvert de cire pour garantir les conditions anaérobies et permettre la détection de la production de gaz. Sans ensemencement : rouge. Milieu 2 (Lysine) : Lysine (10,0 g/L) contenue dans un milieu de base adéquat, avec le pourpre de bromocrésol comme indicateur de pH. Le milieu est recouvert de cire pour garantir les conditions anaérobies. Sans ensemencement : jaune.
- Milieu 3 (Ornithine) : Ornithine (10,0 g/L) contenue dans un milieu de base adéquat, avec le pourpre de bromocrésol comme indicateur de pH. Le milieu est recouvert de cire pour garantir les conditions anaérobies. Sans ensemencement : jaune.
- Milieu 4 (H_2S/Indole) : Thiosulfate de sodium (4,7 g/L), citrate d'ammonium ferrique (0,6 g/L) et tryptophane (1,2 g/L) dans un milieu de base adéquat. Sans ensemencement : couleur beige à légèrement ambrée.
- Milieu 5 (Adonitol) : Adonitol (20,0 g/L) contenu dans un milieu de base adéquat, avec le rouge de crésol comme indicateur de pH. Sans ensemencement : rouge.
- Milieu 6 (Lactose) : Lactose (20,0 g/L) contenu dans un milieu de base adéquat, avec le rouge de crésol comme indicateur de pH. Sans ensemencement : rouge.
- Milieu 7 (Arabinose) : Arabinose (20,0 g/L) contenu dans un milieu de base adéquat, avec le rouge de crésol comme indicateur de pH. Sans ensemencement : rouge.
- Milieu 8 (Sorbitol) : Sorbitol (20,0 g/L) contenu dans un milieu de base adéquat, avec le rouge de crésol comme indicateur de pH. Sans ensemencement : rouge.
- Milieu 9 (Voges-Proskauer) : Glucose (20,0 g/L) contenu dans un milieu de base adéquat. Sans ensemencement : incolore à légèrement ambré.
- Milieu 10 (Dulcitol/PA) : Dulcitol (20,0 g/L), phénylalanine (7,0 g/L) et citrate d'ammonium ferrique (0,5 g/L) contenus dans un milieu de base adéquat, avec le bleu de bromothymol comme indicateur de pH. Sans ensemencement : vert.
- Milieu 11 (Urée) : Urée (20,0 g/L) contenue dans un milieu de base adéquat, avec le rouge de phénol comme indicateur de pH. Sans ensemencement : beige à légèrement ambré.
- Milieu 12 (Citrate) : Citrate de sodium (2,0 g/L) contenu dans un milieu de base adéquat, avec le bleu de bromothymol comme indicateur de pH. Sans ensemencement : vert.

PRÉCAUTIONS

IVD. A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser de tubes présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, détachement de la cire d'un milieu, dessiccation, fissure ou d'autres signes de détérioration.

La précision de **BBL Enterotube II** peut être compromise si l'une des conditions suivantes se produit : une déshydratation ou une liquéfaction, une désolidarisation de la cire par rapport aux surfaces des milieux, toute discordance entre la couleur observée des milieux et celles spécifiées sous « Sans ensemencement », dans la rubrique **REACTIFS**, et toute indication de croissance visible sur la surface des milieux.

Les précautions suivantes sont propres aux compartiments indiqués :

- **Glucose :** Dans ce compartiment, la couche de cire assure le degré d'anaérobiose nécessaire pour que seule la véritable réaction de fermentation caractéristique de toutes les *Enterobacteriaceae* puisse se produire. Si ce milieu reste rouge après l'ensemencement et l'incubation, cela signifie que la souche n'appartient pas à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les *Acinetobacter* spp. négatives au glucose constituent un exemple de microorganismes non *Enterobacteriaceae* négatifs à l'oxydase et ne fermentant pas le glucose dans des conditions anaérobies dans le **BBL Enterotube II**. Bien que le **BBL Enterotube II** permette de différencier ces microorganismes des *Enterobacteriaceae* (dans le Guide d'interprétation, se référer à la base de données des non-fermentaires négatifs à l'oxydase), il peut s'avérer nécessaire d'employer le **BBL Oxi/Ferm Tube II** pour finaliser l'identification.
- **Phénylalanine (PA) :** Ce milieu vert peut devenir plus foncé après l'incubation. Cela doit être considéré comme une réaction négative.

Avertissement : Lors de la préparation et de la manipulation de l'indole et des réactifs VP, respecter les instructions de manipulation pertinentes ainsi que les phrases de risque et conseils de prudence appropriés.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations sur les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver le **BBL Enterotube II** dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans son emballage d'origine, jusqu'au moment de son utilisation. Ne pas congeler ni surchauffer. Les tubes peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption indiquée et incubés pendant les durées recommandées. Les tubes provenant de boîtes déjà entamées peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée. Les tubes ouverts doivent être utilisés immédiatement.

CONTRÔLE DE QUALITÉ PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer le **BBL Enterotube II** avec les souches mentionnées ci-dessous. Pour l'ensemencement, l'incubation et la lecture, suivre les instructions du **Mode opératoire du test**.

MICRO-ORGANISMES	Glucose	Gaz	Lysine	Ornithine	H_2S	Indole	Adonitol	Lactose	Arabinose	Sorbitol	VP	Dulcitol	Phényl-alanine	Urée	Citrate	Biocodes acceptables
Proteus mirabilis ATCC 12453	+	+/-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+/-	66007 / 66006 / 46007
Proteus vulgaris ATCC 6380	+/(+)	+/-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	63007 / 43007
Providencia alcali-faciens ATCC 9886	+	+/-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-/+	61404 / 41405 / 41404 / 61405
Serratia marcescens ATCC 13880	+	+/-	+	+	-	-	+/-	-	-	+	+	-	-	-	+	74461 / 54461 / 74061 / 54061
Escherichia coli ATCC 25922	+	+/-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	75340 / 55340
Klebsiella pneumoniae ATCC 27736	+	+/-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-/+	+	50771 / 70771 / 70773 / 50773
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	-	-	-/+	-	-	-	-	-/(+)	+	*

* *P. aeruginosa* est positif à l'oxydase et par conséquent n'apparaît pas dans les bases de données **BBL Enterotube II**. Toutefois, cette souche est utile en tant que microorganisme de contrôle pour détecter des réactions négatives dans les compartiments glucose et gaz.

+= positif ; – = négatif ; (+) faiblement positif ; +/- = positif ou (rarement) négatif ; +/(+) = positif ou (rarement) faiblement positif ; -/+= négatif ou (rarement) positif.

MÉTHODE

Matériaux fournis

BBL Enterotube II. Produits contrôlés microbiologiquement.
Fiche de résultat et Tableau des couleurs obtenues en fonction des réactions pour **BBL Enterotube II**.

Matériaux non fournis

Guide d'interprétation (livre des codes) **BBL Enterotube II**, n° de document CM-273176.CE, divisé en trois bases de données : (1) Non fermentaires négatifs à l'oxydase, (2) *Enterobacteriaceae* – méthode sans VP et (3) *Enterobacteriaceae* – méthode avec VP.
Le réactif indole de Kovacs (Indole Dropper Reagent, 50 ampoules, n° réf. 261185) et les réactifs Voges-Proskauer (Voges-Proskauer A Dropper Reagent, 50 ampoules, n° réf. 261192 ; Voges-Proskauer B Dropper Reagent, n° réf. 261193) sont disponibles chez BD.
Matériaux et réactifs nécessaires pour effectuer les tests supplémentaires indiqués dans le Guide d'interprétation **BBL Enterotube II**.

Système d'identification **BBL Oxi/Ferm II** (n° réf. 212116) pour l'identification de microorganismes non *Enterobacteriaceae.*
Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Le réactif de Kovacs peut être préparé en laboratoire selon la procédure suivante.

Alcool amylique ou isoamylique	75 mL
p-diméthylaminobenzaldéhyde	5 g
Acide chlorhydrique concentré	25 mL

Dissoudre le p-diméthylaminobenzaldéhyde (le réactif doit être de couleur jaune clair) dans l'alcool, puis ajouter lentement l'acide. Le réactif préparé doit avoir une couleur jaune paille et doit être conservé dans

un flacon marron et réfrigéré, afin de garantir une stabilité optimale du produit. Aucun réactif de couleur marron foncé ne doit être utilisé.

Les réactifs Voges-Proskauer peuvent être préparés de la façon suivante :

5 % de solution d'alpha-naphthol

alpha-naphthol	5 g
Ethanol (alcool éthylique) absolu	100 mL

20 % de solution d'hydroxyde de potassium

Eau	100 mL
Hydroxyde de potassium (granulés)	20 g
Créatine	300 mg

Après la préparation, les réactifs Voges-Proskauer restent stables pendant deux semaines, dans la mesure où ils sont conservés dans l'obscurité, dans des flacons hermétiquement fermés, entre 2 et 8 °C.

Types d'échantillons

BBL Enterotube II est un système d'identification biochimique et **ne doit pas** être utilisé directement sur des échantillons cliniques. Utiliser des isolats issus de milieux appropriés (voir **Mode opératoire du test**). Le système **BBL Enterotube II** peut être utilisé pour identifier les bâtonnets à Gram négatif *(Enterobacteriaceae)* aérobies ou anaérobies facultatifs isolés à partir de n'importe quel échantillon.

Mode opératoire du test

Pour l'ensemencement du **BBL Enterotube II**, il est possible d'utiliser des cultures provenant de géloses MacConkey (MAC), Eosin Methylene Blue (EMB), Salmonella Shigella (SS) ou Hektoen Enteric (HE) ou de géloses au sang non sélectives. La culture utilisée pour l'ensemencement doit être âgée d'au moins 18 h, sans toutefois dépasser 48 h en général. Veiller à ce que l'isolat à identifier avec le **BBL Enterotube II** soit une culture pure d'un bâtonnet à Gram négatif. Le **BBL Enterotube II** doit être utilisé uniquement avec des isolats négatifs à l'oxydase car les micro-organismes positifs à l'oxydase (non *Enterobacteriaceae)* sont identifiés à l'aide du **BBL Oxi/Ferm Tube II**.

1. Préparer une feuille du carnet des codes pour l'isolat en y entrant le nom du patient, le numéro d'échantillon et la date.
   Remarque : L'utilisateur peut choisir entre une base de données avec VP ou sans VP. En fonction de cette décision, utiliser le recto ou le verso du carnet. Si la base de données sans VP est choisie, il peut s'avérer nécessaire d'effectuer la réaction VP comme test supplémentaire pour les microorganismes sélectionnés.
2. Prendre un tube **BBL Enterotube II** et inscrire le nom du patient, le numéro d'échantillon et la date sur l'étiquette.
3. Enlever les deux bouchons. L'extrémité du fil à ensemencer se trouve sous le bouchon blanc. Ne pas passer le fil à la flamme.
4. Prélever une colonie bien isolée directement avec l'extrémité du fil à ensemencer du **BBL Enterotube II (Figure 1)**. L'extrémité et le côté du fil à ensemencer doivent présenter une quantité visible d'inoculum. Veiller à ne pas toucher la gélose avec le fil. Selon les besoins de l'expérience, utiliser un ou plusieurs **BBL Enterotube II** pour prélever des colonies supplémentaires.
5. Ensemencer le **BBL Enterotube II** en tordant le fil, puis en le retirant à travers les douze compartiments tout en appliquant un mouvement de rotation **(Figure 2)**.
6. Ré-insérer le fil (sans le stériliser) dans le **BBL Enterotube II**, en effectuant un mouvement de rotation, à travers les 12 compartiments, jusqu'à que l'encoche du fil soit alignée avec l'ouverture du tube **(Figure 3)**. L'extrémité du fil doit être visible dans le compartiment citrate. Briser le fil au niveau de l'encoche en le tordant. La partie du fil qui demeure à l'intérieur du tube maintient les conditions anaérobies indispensables à une véritable fermentation du glucose, à la production de gaz et à la décarboxylation de la lysine et de l'ornithine.
7. A l'aide de la partie du fil qui a été détachée, perforer en plusieurs endroits le film recouvrant les entrées d'air des huit derniers compartiments (adonitol, lactose, arabinose, sorbitol, Voges-Proskauer, dulcitol/PA, urée et citrate), afin de favoriser la croissance aérobie dans ces compartiments **(Figure 4)**. Remettre les deux bouchons en place.
8. Incuber entre 35 et 37 °C pendant 18 à 24 h, en prenant soin de coucher le **BBL Enterotube II** sur son côté plat ou de le placer en position verticale. Permettre la circulation de l'air entre les tubes incubés.
9. Interpréter et enregistrer toutes les réactions sauf celles de l'indole et de Voges-Proskauer. (Pour des instructions complètes sur la lecture des résultats du **BBL Enterotube II**, voir la rubrique **Résultats**.) Tous les autres tests doivent être lus avant l'exécution des tests indole et Voges-Proskauer, car les réactifs ajoutés lors de ces tests peuvent perturber les autres réactions dans le **BBL Enterotube II**.

Ajout de réactif pour les réactions de l'**indole et Voges-Proskauer** :
1. Placer le **BBL Enterotube II** horizontalement sur la paillasse ou verticalement sur un portoir, le compartiment à glucose étant orienté vers le bas. A l'aide d'une aiguille ou de l'extrémité détachée du fil à ensemencer d'un **BBL Enterotube II**, percer un trou d'environ 3 à 4 mm de diamètre dans le film de plastique recouvrant les compartiments H_2S/indole et VP. Le trou peut aussi être percé en faisant fondre le film avec un fil à ensemencer chauffé.

2. Pour effectuer le test de l'indole : Ajouter 3-4 gouttes du réactif de Kovacs (n° réf. 261185 ou préparé dans le laboratoire ; voir la rubrique **Matériaux non fournis**) au compartiment H_2S/indole. Laisser le réactif entrer en contact avec la surface du milieu. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une coloration rouge dans le réactif ajouté dans les 10 secondes.

3. Pour effectuer le test Voges-Proskauer : Ce test est obligatoire si la base de données avec VP a été choisie. Il peut également être nécessaire d'effectuer ce test pour confirmation si la base de données sans VP est utilisée.
Lors de l'utilisation de réactifs préparés au laboratoire (voir la rubrique **Matériaux Non fournis**), ajouter deux gouttes d'une solution d'hydroxyde de potassium à 20 % contenant 0,3 % de créatine et trois gouttes d'alpha-naphthol à 5 % dans de l'alcool éthylique absolu. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur rouge dans les 20 minutes. N'attendez pas plus de 20 min pour lire les résultats !
Lors de l'utilisation des compte-gouttes de réactifs, ajouter 3 à 5 gouttes de Voges-Proskauer A reagent (n° réf. 261192) et 1 à 2 gouttes de Voges-Proskauer B reagent (n° réf. 261193). Une réaction positive est indiquée par l'apparition d'une coloration rouge cerise dans les 5 à 15 minutes. Une décoloration cuivre à brunâtre est interprétée comme une réaction négative. Ne pas attendre plus de 15 minutes pour lire les résultats!

Résultats
Suivre la procédure indiquée ci-dessous pour identifier l'isolat. Les informations sur l'aspect des réactions positives et négatives sont données dans le Tableau 1.

Remarque : Si le compartiment glucose ne présente aucun changement de couleur ou s'il présente une couleur orange, et qu'une croissance est révélée dans les autres compartiments par des changements de couleur, le microorganisme ne fait pas partie de la famille des *Enterobacteriaceae.* (Voir la rubrique **PRECAUTIONS**.)

1. Après 18 à 24 h d'incubation, interpréter toutes les réactions. A l'exception de VP et indole, lire les réactions de façon séquentielle en comparant les couleurs des milieux présents dans le tube après incubation à celles représentées dans le tableau de couleurs sur la couverture du carnet des codes et, éventuellement, à un **BBL Enterotube II** non ensemencé préalablement mis à la température ambiante **(Figure 5)**. Toutes les réactions devant être positives peuvent être d'intensité égale, inférieure ou supérieure à celle des couleurs représentées dans le Tableau des couleurs obtenues en fonction des réactions.
2. Signaler chaque résultat positif en encerclant le numéro affiché au dessous du compartiment approprié dans la fiche de résultats **(Figure 6)**.
3. Effectuer ensuite les tests indole et VP. Si les résultats sont positifs, encercler les numéros correspondants sur la feuille préparée. Le test VP n'est obligatoire que dans la mesure où la base de données avec VP a été choisie.
4. Additionner tous les nombres encerclés dans la section entre crochets et entrer la somme dans l'espace prévu à cet effet en-dessous de la flèche **(Figure 6)**.
5. Rechercher le nombre à cinq chiffres dans le Guide d'interprétation (livre des codes) et trouver la ou les meilleures réponses dans la colonne des valeurs ID (« ID Value »). Vérifier que la base de données correcte est utilisée [(1) Non fermentaires négatifs à l'oxydase, (2) *Enterobacteriaceae* – méthode sans VP et (3) *Enterobacteriaceae* – méthode avec VP]. Dans l'exemple de la Figure 6, l'identification de *Klebsiella pneumoniae* est réalisée.

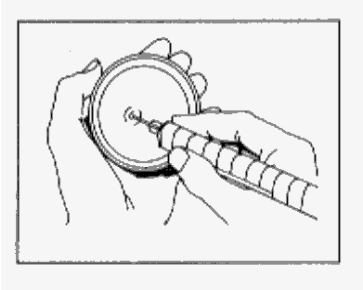


Figure 1

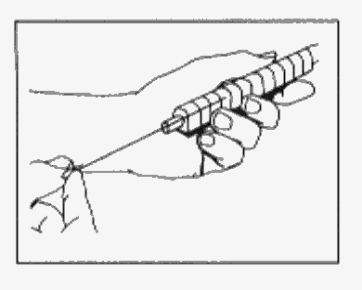


Figure 2

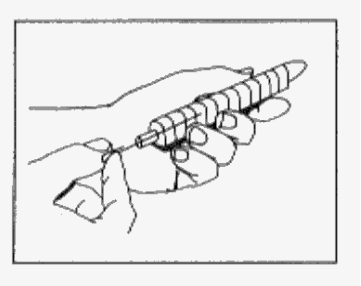


Figure 3

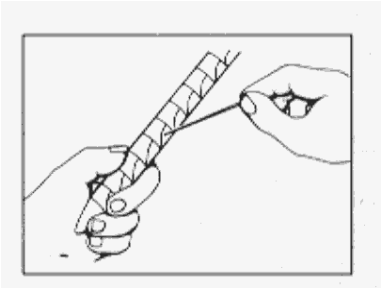


Figure 4

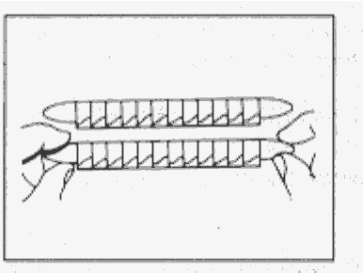
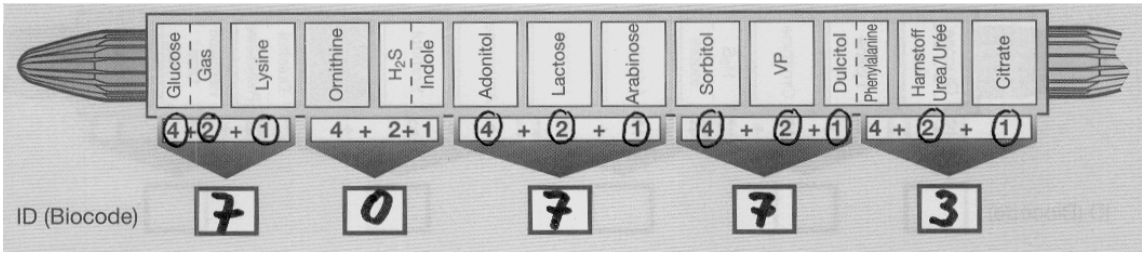
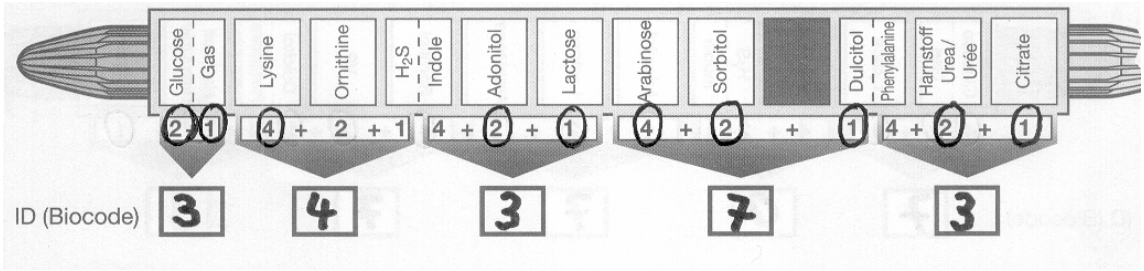


Figure 5



(A)



(B)

Figure 6 : Fiche de résultat **BBL Enterotube II** (**A**= base de données avec VP ; **B**= base de données sans VP)

Tableau 1 : Aspect des réactions négatives et positives dans le BBL Enterotube II

REACTIONS			REMARQUES
Réactifs	**Négatif**	**Positif**	
			COMPARTIMENT 1
Glucose	rouge (à orange)	jaune (à doré)	**Glucose (GLU) :** Les produits finaux de la fermentation bactérienne du glucose sont soit acides, soit acides et gazeux. Le changement de pH provoqué par la production d'acide est indiqué par un changement de la couleur de l'indicateur dans le milieu de rouge (alcalin) à jaune (acide). Toute présence de jaune doit être interprétée comme une réaction positive ; l'orange doit être considéré comme une réaction négative.
Production de gaz	cire non soulevée	cire soulevée	**Production de gaz (GAS) :** Révélée par la séparation nette et complète de la couche de cire de la surface du milieu de glucose, mais non par la présence de bulles dans le milieu. La quantité de gaz produite pouvant varier selon les bactéries, le degré de séparation entre le milieu et la couche de cire varie également selon la souche testée.
			COMPARTIMENT 2
Lysine	jaune	pourpre	**Lysine décarboxylase (LYS) :** La décarboxylation bactérienne de la lysine, provoquant la formation du produit final alcalin (cadavérine), est indiquée par un changement de couleur dans l'indicateur du milieu, de jaune pâle (acide) à pourpre (alcalin). Le milieu reste jaune si la décarboxylation de la lysine n'a pas lieu.
			COMPARTIMENT 3
Ornithine	jaune	pourpre	**Ornithine décarboxylase (ORN) :** La décarboxylation de l'ornithine, provoquant la formation du produit final alcalin (putrescine), est indiquée par un changement de couleur dans l'indicateur du milieu, de jaune pâle (acide) à pourpre (alcalin). Le milieu reste jaune si la décarboxylation de l'ornithine n'a pas lieu.
			COMPARTIMENT 4
H_2S	beige à légèrement ambré	noir	**Production de sulfure d'hydrogène (H_2S) :** Le sulfure d'hydrogène est produit par des bactéries capables de réduire les composés contenant du soufre, tels que les peptones et le thiosulfate de sodium, présents dans le milieu. Le sulfure d'hydrogène réagit avec les sels de fer également présents dans le milieu pour former un précipité noir de sulfure ferrique, généralement le long de la ligne d'ensemencement. Certaines souches de *Providencia* peuvent produire une coloration marron diffuse dans ce milieu, mais celle-ci ne doit pas être confondue avec la véritable production de H_2S, révélée par la présence d'une couleur noire. **Remarque :** Le précipité noir peut s'estomper ou revenir à négatif si le **BBL Enterotube II** est lu après 24 h d'incubation.
Formation d'indole	incolore	rose-rouge	**Formation d'indole (IND) :** La production d'indole à partir du métabolisme du tryptophane par l'enzyme bactérienne tryptophanase est révélée par l'apparition d'une couleur rose à rouge après ajout du réactif indole de Kovacs, lequel est ajouté dans le compartiment après 18 à 24 h d'incubation du tube (voir la rubrique **Mode opératoire du test**).
			COMPARTIMENTS 5,6,7,8
Adonitol lactose, arabinose, sorbitol	rouge (à orange)	jaune (à doré)	**Adonitol (ADON), lactose (LAC), arabinose (ARAB), sorbitol (SORB) :** La fermentation bactérienne de l'adonitol, du lactose, de l'arabinose et du sorbitol provoque la formation de produits finaux acides, et est indiquée par un changement de couleur dans l'indicateur du milieu, de rouge (alcalin) à jaune (acide). Toute présence de jaune doit être interprétée comme une réaction positive ; l'orange doit être considéré comme négatif.
			COMPARTIMENT 9
Voges-Proskauer	incolore à brunâtre	rouge	**Voges-Proskauer (VP) :** L'acétylméthylcarbinol (acétoïne) est un produit intermédiaire de la synthèse de butylène glycol à partir de la fermentation du glucose. La production d'acétoïne est décelée après l'ajout de réactifs VP après incubation (voir la rubrique **Mode opératoire du test**). La présence d'acétoïne est indiquée par l'apparition d'une coloration rouge dans les 5 à 20 minutes.
			COMPARTIMENT 10
Dulcitol	vert	jaune (à doré)	**Dulcitol (DUL) :** La fermentation bactérienne du dulcitol provoque la formation de produits finaux acides, et est révélée par un changement de couleur dans l'indicateur du milieu, de vert (alcalin) à jaune ou jaune pâle (acide).

REACTIONS			REMARQUES
Réactifs	**Négatif**	**Positif**	
PA	toute nuance de vert	noir-gris fumée	**Phénylalanine désaminase (PA) :** Ce test détecte la formation d'acide pyruvique provenant de la désamination de la phénylalanine. L'acide pyruvique résultant réagit avec le sel ferrique présent dans le milieu pour produire une couleur caractéristique noire à gris fumée. Il est inutile d'ajouter du chlorure ferrique car le milieu contient déjà du sel de fer.
COMPARTIMENT 11			
Urée	beige à légèrement ambré	rose pâle à rose	**Urée (UREA) :** L'uréase, une enzyme présente chez divers microorganismes, hydrolyse l'urée en ammoniaque, provoquant un changement de couleur de l'indicateur du milieu, de jaune (acide) à rouge-pourpre (alcalin). Le test d'uréase est fortement positif pour les *Proteus* spp, qui peuvent être mises en évidence 4 à 6 h seulement après l'incubation ; le test est faiblement positif (couleur rose pâle) après 18 à 24 h d'incubation pour les *Klebsiella* et *Enterobacter* spp.
COMPARTIMENT 12			
Citrate	vert	bleu	**Citrate (CIT) :** Ce test détecte les microorganismes capables d'utiliser le citrate, sous la forme de son sel de sodium, comme unique source de carbone. Ceux-ci produisent des métabolites alcalins qui font passer l'indicateur du vert (acide) au bleu foncé (alcalin). Toute présence de bleu doit être considérée comme une réaction positive. REMARQUE : Certains microorganismes ne produisent pas toujours un changement de couleur fortement prononcé. Des nuances plus claires de la même couleur de base doivent également être considérées comme des réactions positives.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

Le système **BBL Enterotube II** est conçu spécifiquement pour identifier les bâtonnets à Gram négatif qui sont négatifs à l'oxydase, et il doit être utilisé uniquement pour différencier les membres de la famille *Enterobacteriaceae*. Un certain nombre de non-fermentaires négatifs à l'oxydase peuvent également être identifiés avec ce système, mais l'utilisation du **BBL Oxi/Ferm Tube II** est recommandée pour ces microorganismes.

Caractéristiques de performances

Le système **BBL Enterotube II** a été évalué par plusieurs études externes. Les données publiées indiquent une précision d'identification de 87 à 99 %.[12-14]

Reproductibilité : Au total, dix microorganismes ont été testés en double sur trois jours par trois laboratoires indépendants utilisant le **BBL Enterotube II**. Trois (30 %) des microorganismes ont révélé des biocodes identiques avec chaque exemplaire testé dans chaque laboratoire. Cinq (50 %) des microorganismes ont présenté de légères variations dans leurs biocodes, mais l'identification des microorganismes était identique sur chaque exemplaire. Deux (20 %) des microorganismes ont présenté de légères variations dans leurs biocodes, et sur les 18 exemplaires de test de ces microorganismes, deux ont produit des biocodes non identifiables. Sur la totalité des exemplaires, les identifications ont concordé à 98,9 %.

Lors d'une étude, 247 souches déjà identifiées (dont des cultures ATCC connues) ont été analysées avec le système d'identification **BBL Enterotube II**. Après l'ensemencement initial, neuf microorganismes ont révélé des discordances biochimiques. Après ré-ensemencement, huit de ces discordances ont été résolues. Dans cinq de ces cas, le résultat à la résolution était équivalent au résultat initial de la méthode de référence. Dans trois cas, le résultat à la résolution était équivalent au résultat initial obtenu avec le **BBL Enterotube II**. Dans un cas, le résultat à la résolution était différent des deux résultats initiaux. Le test biochimique discordant a été résolu par une troisième méthode qui a donné un résultat similaire à celui obtenu par le **BBL Enterotube II**.
Les échantillons utilisés dans cette étude sont répertoriés dans le Tableau 2. Celui-ci indique le genre, l'espèce et le nombre des souches testées ainsi que le pourcentage de microorganismes ayant donné des réactions biochimiques positives.

Limites de la procédure

Le **BBL Enterotube II** est conçu pour les taxons fournis. L'utilisation de taxons autres que ceux répertoriés dans le Tableau 3 n'est pas prévue par ce système.
Les biocodes du **BBL Enterotube II** ne peuvent pas être utilisés pour distinguer les isolats d'un ou de plusieurs échantillons à l'aide de leur phénotype.
Les résultats biochimiques obtenus avec le **BBL Enterotube II** peuvent différer de ceux obtenus par d'autres méthodes ou cités dans les publications.

Un test sérologique est nécessaire pour confirmer l'identification des *Salmonella* et *Shigella* spp. Les isolats de ces microorganismes doivent être envoyés à des laboratoires de référence appropriés pour un sérotypage complet et pour la surveillance épidémiologique.
L'identification de bactéries à Gram négatif doit tenir compte d'autres caractéristiques telles que la source de l'échantillon, l'historique du patient, la morphologie des colonies, la morphologie microscopique, la sérologie et les profils de sensibilité aux antimicrobiens.
L'identification des isolats rares doit être répétée ou des tests supplémentaires doivent être effectués pour vérifier l'identification de tels microorganismes.
Certaines souches de microorganismes peuvent provoquer des réactions biochimiques atypiques provoquées par des besoins nutritionnels ou des mutations, et peuvent s'avérer difficiles à identifier.
Certains microorganismes peuvent nécessiter plus de 24 h d'incubation pour pouvoir être identifiés correctement.
Bien qu'il ait été récemment proposé d'inclure *Plesiomonas shigelloides* dans la famille des *Enterobacteriaceae*, cette espèce n'est pas prévue dans les bases de données **BBL Enterotube II**.[1,2] Ce microorganisme doit être testé avec le système et la base de données **BBL Oxi/Ferm Tube II**.

Tableau 2 : Résultats de l'évaluation des performances

Microorganismes	No.d'échan-tillons	GLU	GAS	LYS	ORN	H_2S	IND	ADO	LAC	ARA	SOR	DUL	PA	URE	CIT
ACINETOBACTER															
A. anitratus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
*A. lwoffii**	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BURKHOLDERIA															
B. cepacia	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
CEDECEA															
C. davisae	1	100	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
*C. lapagei**	1	100	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100
CITROBACTER															
C: amalonaticus	1	100	100	0	100	0	100	0	0	100	100	0	0	100	100
C. freundii	4	100	100	0	0	100	0	0	50	100	100	0	0	50	50
ESCHERICHIA															
E. coli	83	100	92	100	78	0	99	0	88	99	100	1	0	0	0
GROUPES ENTERIQUES															
Groupe entérique 60*	2	100	100	0	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
ENTEROBACTER															
E. aerogenes	5	100	100	100	100	0	0	100	80	100	100	0	0	0	100
E. amnigenus bio 1	2	100	0	100	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0	100
E. cloacae	10	100	100	10	90	0	0	10	100	100	100	20	0	10	80
EWINGELLA															
E. americana	1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
HAFNIA															
*H. alvei**	3	100	100	100	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
KLEBSIELLA															
*K. oxytoca**	8	100	0	100	0	0	100	100	100	100	100	38	0	100	100
K. ozaenae	4	100	100	100	0	0	100	100	100	100	100	50	0	50	100
K. pneumoniae	20	100	100	100	0	0	0	65	100	100	100	30	0	100	100
KLUYVERA															
*K. ascorbata**	1	100	100	100	100	0	100	0	100	100	0	0	0	0	100
MORGANELLA															
M. morganii	2	100	100	0	100	0	100	0	0	0	0	0	100	100	50
PROTEUS															
*P. mirabilis**	4	100	75	0	100	100	0	0	0	0	0	0	100	100	100
PROVIDENCIA															
*P. rettgeri**	2	100	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0	100	100	100
*P. stuartii**	1	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100	0	100
SALMONELLA															
Salmonella sp.	41	100	100	100	98	100	0	0	0	100	100	100	0	0	100
Salmonella (ariz) IIIa	5	100	100	100	100	100	0	0	0	100	100	0	0	0	80
SERRATIA															
S. liquefaciens	3	100	100	100	100	0	0	0	67	100	100	0	100	100	67
*S. marcescens**	5	100	20	100	100	80	0	0	0	0	80	0	0	0	100
S. plymuthica	1	100	0	0	0	0	0	0	100	100	100	0	0	0	0

Microorganismes	No.d'échan-tillons	GLU	GAS	LYS	ORN	H_2S	IND	ADO	LAC	ARA	SOR	DUL	PA	URE	CIT
SHIGELLA															
Shigella srgps A,B,C	10	100	0	0	0	0	20	0	0	20	0	0	0	0	0
S. sonnei	17	100	0	0	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
YERSINIA															
Y. enterocolitica	1	100	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0
Y. frederiksenii	2	100	100	0	100	0	100	0	100	100	100	0	0	0	0
Y. ruckeri	2	100	0	50	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0

* Un microorganisme de ce groupe provenait de l'*American Type Culture Collection* (ATCC).

Tableau 3 : Taxons d'*Enterobacteriaceae* inclus dans les bases de données BBL Enterotube II

Buttiauxella agrestis	*Hafnia alvei*	*Salmonella* serotype Pullorum
Cedecea davisae	*Hafnia alvei* biogroup 1	*Salmonella (arizonae)* IIIa
Cedecea lapagei	*Klebsiella pneumoniae*	*Salmonella (diarizonae)* IIIb
Cedecea neteri	*Klebsiella oxytoca*	*Serratia marcescens*
Cedecea species 3	*Raoultella (Klebsiella) ornithinolytica* (group 47)	*Serratia marcescens* biogroup 1
Cedecea species 5	*Klebsiella ozaenae*	*Serratia liquefaciens*
Citrobacter freundii	*Klebsiella rhinoscleromatis*	*Serratia rubidaea*
Citrobacter koseri (diversus)	*Kluyvera ascorbata*	*Serratia odorifera* biogroup 1
Citrobacter amalonaticus	*Kluyvera cryocrescens*	*Serratia odorifera* biogroup 2
Citrobacter farmeri	*Leclercia adecarboxylata*	*Serratia plymuthica*
Edwardsiella tarda	*Leminorella* sp.	*Serratia ficaria*
Edwardsiella tarda biogroup 1	*Moellerella wisconsensis*	*Serratia fonticola*
Edwardsiella hoshinae	*Morganella morganii*	*Shigella* serogroups A, B, C
Edwardsiella ictaluri	*Morganella morganii biogroup 1*	*Shigella sonnei*
Enterobacter aerogenes	*Obesumbacterium proteus* biogroup 2	*Tatumella ptyseos*
Enterobacter asburiae	*Pantoea agglomerans* (*Enterobacter agglomerans* complex)	*Yersinia enterocolitica*
Enterobacter cloacae	*Proteus mirabilis*	*Yersinia frederiksenii*
Enterobacter gergoviae	*Proteus vulgaris*	*Yersinia intermedia*
Enterobacter sakazakii	*Proteus penneri*	*Yersinia kristensenii*
Enterobacter cancerogenus (taylorae)	*Proteus myxofaciens*	*Yersinia pestis*
Enterobacter amnigenus biogroup 1	*Providencia rettgeri*	*Yersinia pseudotuberculosis*
Enterobacter amnigenus biogroup 2	*Providencia stuartii*	*Yersinia ruckeri*
Escherichia coli	*Providencia alcalifaciens*	*Yokenella regensburgeri*
Escherichia coli (AD), inactive	*Providencia rustiganii*	Enteric group 58
Escherichia fergusonii	*Salmonella species*	Enteric group 59
Escherichia hermanii	*Salmonella* serotype Typhi	Enteric group 60
Escherichia vulneris	*Salmonella* serotype Choleraesuis	
Escherichia blattae	*Salmonella* serotype Paratyphi A	
Ewingella americana	*Salmonella* serotype Gallinarum	

RÉFÉRENCES

1. Farmer, J.J. III. 2003. Enterobacteriaceae: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Abbott, S.L. 2003. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and other Enterobacteriaceae. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Farmer, J.J, III., et al. 1985. Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J. Clin. Microbiol. 21:46-76.
4. Ewing, W.H. 1973. Differentation of Enterobacteriaceae by biochemical reactions, U.S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.
5. Ewing, W.H. 1972. Biochemical characterization of Citrobacter freundii and Citrobacter diversus. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.
6. Ewing, W.H., and M.A. Fife. 1971. Enterobacter agglomerans and the Herbicola-Lathyri bacteria. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.
7. Darland, G., and B.R. Davis. 1973. Biochemical and serological characterization of hydrogen sulfide producing variants of Escherichia coli. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.
8. Ewing, W.H. 1974. Isolation and identification of Salmonella and Shigella. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.

9. Ewing, W.H., B.R. Davis, and M.A. Five. 1972. Biochemical characterization of Serratia liquefaciens and Serratia rubidaea. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.
10. Brenner, D.J., et al. 1977. Taxonomic and nomenclature changes in Enterobacteriaceae. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.:, Oct. 1977.
11. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. Elsevier Science Publishing Co., New York, N.Y.
12. Holmes, B. 1989. Comparative evaluation of the Roche Cobas IDA and Enterotube II systems for identifying members of the family Enterobacteriaceae. J. Clin. Microbiol. 27: 1027-1030.
13. Mastroeni, P. et al. 1983. Comparison of six systems for the identification of Enterobacteriaceae. G. Batteriol. Virol. Immunol. 76: 3-19.
14. Chiaradia, V. et al. 1983. Comparative evaluation of 3 miniaturized systems (API 20E, Enterotube II, Sensititre AP60) commonly used in clinical microbiology laboratories. Quad. Sclavo Diagn. 19: 159-175 [in Italian].

CONDITIONNEMENT

BBL Enterotube II

N° réf. 273176 25 tubes

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.

Becton Dickinson GmbH
BD Diagnostic Systems
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50, Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com

BD, BD logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
Enterotube and Oxi/Ferm are trademarks of Becton Dickinson GmbH.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
© 2007 Becton, Dickinson and Company